

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
MEDICINA VETERINÁRIA

Kamila Daniel

**OCORRÊNCIA DE *Clostridium (Clostridioides) difficile* EM LEITÕES: UMA
REVISÃO**

Curitibanos

2021

Kamila Daniel

**OCORRÊNCIA DE *Clostridium (Clostridioides) difficile* EM LEITÕES: UMA
REVISÃO**

Relatório de Graduação em Medicina Veterinária do
Centro de Ciências Rurais, da Universidade Federal de
Santa Catarina como requisito para a obtenção do título
de Médica Veterinária.
Orientador: Prof. Dr. Álvaro Menin

Curitibanos

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Daniel, Kamila

OCORRÊNCIA DE *Clostridium (Clostridioides) difficile* EM
LEITÕES: UMA REVISÃO / Kamila Daniel ; orientador, Álvaro
Menin, 2021.

34 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Medicina Veterinária,
Curitibanos, 2021.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária. 2. Suinocultura. 3. Colite
neonatal. 4. *Clostridioides*. I. Menin, Álvaro. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Medicina Veterinária. III. Título.

Kamila Daniel

**OCORRÊNCIA DE *Clostridium (Clostridioides) difficile* EM LEITÕES: UMA
REVISÃO**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Médica Veterinária e aprovado em sua forma final pelo curso de Medicina Veterinária.

Curitiba, 01 de outubro de 2021.

Prof. Dr. Malcon Andrei Martinez Pereira
Coordenador do Curso
Universidade Federal de Santa Catarina

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Álvaro Menin
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dr^a. Aline Félix Schneider Bedin
Avaliadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Giuliano Moraes Figueiró
Avaliador
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos meus pais que permitiram a realização deste sonho e sempre estiveram ao meu lado nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus pela vida e por guiar meus passos durante toda essa caminhada, pois sem Ele nada disso seria possível.

Agradeço aos meus pais Gomercindo e Delcia, por toda a ajuda e incentivo, durante toda essa trajetória. Por fazerem todo o possível para que eu e meus irmãos tivéssemos o suporte necessário para alcançar nossos sonhos. Vocês são meus exemplos.

Agradeço aos meus irmãos, Wilman e Sabrina, por toda cumplicidade e apoio durante todos esses anos.

Agradeço aos meus familiares e amigos que estiveram juntos durante esses anos, me apoiando durante esta caminhada.

Agradeço ao meu namorado João Emanuel, por tornar estes três últimos anos mais especiais. Obrigada pelo incentivo, pela força, pelo carinho, pelo cuidado e pelo amor compartilhado.

Agradeço imensamente a todas as pessoas que conheci nesta etapa e compartilharam momentos comigo. Das amizades formadas não poderia esquecer de vocês Ana Karolina, Sabrina Arruda, Leticia Lipert e a todos que conheci. Obrigada por toda a parceria, risadas, conversas e cumplicidade, teria sido mais difícil sem vocês.

Agradeço a todos os professores que acompanhei durante a graduação, que sempre deram o melhor de si para que tivéssemos um ensino de qualidade, em especial ao meu orientador Álvaro Menin, Aline Félix Schneider Bedin e Giuliano Figueiró por quem tenho uma enorme admiração.

Agradeço aos profissionais da Pamplona Alimentos S/A em especial ao meu supervisor Yuso Henrique Tutida, obrigada por todo o acolhimento, suporte e ensinamentos passados.

E, por fim, a todos que de alguma forma contribuíram para minha formação! Meu muito obrigada!

“A persistência é o caminho do êxito.” (Charles Chaplin)

RESUMO

A suinocultura é uma atividade com grande importância socioeconômica para o Brasil e está em constante crescimento. A região sul brasileira, com ênfase para o estado de Santa Catarina que é o maior produtor de carne suína, destacando-se no agronegócio mundial. Atualmente, as doenças entéricas estão entre as principais enfermidades na fase inicial da vida dos leitões. Dentre as enfermidades que acometem o trato gastrointestinal dos suínos na maternidade, a infecção por *Clostridium (Clostridioides) difficile (C. difficile)*, bastonetes Gram-positivos, capsulados, não hemolíticos e anaeróbicos obrigatórios, provoca grande impacto na produção suinícola e é hoje uma das principais causas de diarreia em leitões neonatos. Em suínos a infecção associada a *C. difficile* (ICD) comumente se manifesta nos primeiros sete dias de vida e está relacionada a fatores que promovem alterações no microbioma intestinal, acarretando refugagem, perda de peso e mortalidade. O diagnóstico de ICD tem sido um frequente desafio na medicina veterinária o que acaba dificultando o tratamento e favorecendo a disseminação do agente. Desta forma, a prevenção e o controle desta enfermidade na fase de aleitamento baseiam-se principalmente em medidas de manejo, limpeza e desinfecção, pois até o momento não há produtos comerciais disponíveis para tratar a ICD em leitões.

Palavras-chave: Saúde única. Diagnóstico veterinário. Microbiologia. Imunologia veterinária.

ABSTRACT

Pig farming is an activity with great socioeconomic importance for Brazil and is constantly growing. The southern region of Brazil, with emphasis on the state of Santa Catarina, which is the largest producer of pork, standing out in the world's agribusiness. Currently, enteric diseases are among the main diseases in the early stages of piglets' lives. Among the diseases that affect the gastrointestinal tract of pigs in the maternity hospital, infection by *Clostridium (Clostridioides) difficile* (*C. difficile*), Gram-positive rods, capsulated, non-hemolytic and obligatory anaerobic, has a great impact on pig production and is today a of the main causes of diarrhea in newborn piglets. In pigs, *C. difficile* associated infection (CDI) commonly manifests itself in the first seven days of life and is related to factors that promote changes in the intestinal microbiome, resulting in refuse, weight loss and mortality. Diagnosis of CDI has been a frequent challenge in veterinary medicine, which ends up making treatment difficult and favoring the spread of the agent. Thus, the prevention and control of this disease in the suckling phase is mainly based on management, cleaning and disinfection measures, as so far there are no commercial products available to treat ICD in piglets.

Keywords: One health. Veterinary diagnostics. Microbiology. Veterinary immunology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição de possíveis agentes patogênicos causadores de diarreia na maternidade de acordo com a idade do leitão.....	15
Figura 2 – Imagem esquemática do microbioma intestinal.....	17
Figura 3 – Patogênese do <i>C. difficile</i>	20
Figura 4 – Patogenia de <i>Clostridioides difficile</i>	22
Figura 5 – Edema de mesocólon em leitão com ICD.....	25
Figura 6 – Lesões microscópicas observadas no cólon de leitões positivos para toxina <i>C. difficile</i>	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% – Porcentagem

C. difficile – *Clostridioides difficile*

ICD – Infecção associada a *C. difficile*

IL-1 – Interleucina-1

IL-8 – Interleucina-8

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	PRINCIPAIS AGENTES ENVOLVIDOS EM PROBLEMAS ENTÉRICOS NA FASE DE MATERNIDADE.....	15
2.2	MICROBIOMA INTESTINAL	16
2.3	ANTIMICROBIANOS.....	18
2.4	<i>Clostridium (Clostridioides) difficile</i>	18
2.4.1	Fatores de patogênese.....	19
2.5	PATOGENIA	21
2.6	EPIDEMIOLOGIA.....	22
2.7	SINAIS CLÍNICOS	24
2.8	LESÕES MACROSCÓPICAS E MICROSCÓPICAS	24
2.9	DIAGNÓSTICO	26
2.8	PREVENÇÃO E CONTROLE	27
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
	REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2021) a produção mundial de carne suína, no ano de 2020 foi de 100 milhões de toneladas. O Brasil ocupa o quarto lugar no *ranking* mundial em produção de carne suína, ficando atrás apenas da China, União Europeia e Estados Unidos. Se tratando de Brasil, a região sul destaca-se no cenário nacional, com ênfase para o estado de Santa Catarina que vem apresentando os maiores índices produtivos do país, correspondendo a aproximadamente 31% da produção e 52% da exportação nacional.

O Brasil é um dos grandes produtores e exportadores mundiais de proteína animal. Graças ao excelente status sanitário, possibilita a oferta de produtos com alta segurança alimentar, o que garantem seu acesso ao mercado mundial. Isso se dá em virtude do esforço permanente na manutenção da biossegurança e do bem-estar dos animais (ABPA, 2021).

Por ser destaque na produção e na exportação de carne suína o Brasil deve atentar-se a medidas de biossegurança e aos cuidados necessários para impedir que determinadas doenças infectem seu rebanho. Neste sentido, é de suma importância o conhecimento do espectro clínico das doenças infecciosas para compreender seu comportamento no rebanho e por decorrência, estabelecer medidas eficientes de controle (MENIN *et al.*, 2019; ZANELLA; MORÉS; BARCELLOS, 2016).

As doenças entéricas estão entre as principais enfermidades na fase inicial da vida dos leitões e conseqüentemente acarretam grandes perdas econômicas para o setor suinícola (ARAÚJO; BROGGIO, 2021). As perdas podem ser observadas pela redução do ganho de peso, mortalidade e gastos com tratamentos (SONGER, 2004). Ainda, algumas dessas etiologias podem ser potencialmente patogênicas para os humanos, representando um risco para saúde pública (MENIN *et al.*, 2008).

A taxa de mortalidade pré-desmame representa um importante indicador na produção de suínos, podendo atingir elevados índices, principalmente na primeira semana de vida, mas sendo mais representativa até o terceiro dia. Dentre as várias causas de morte, de modo geral, o esmagamento representa (71,63%), inanição (15,81%), refugagem (7,91%), diarreia (1,86%), má formação (1,86%) e anemia (0,93%) (GODOY, 2017).

Dentre as enfermidades infecciosas que acometem o trato gastrointestinal dos suínos nas primeiras semanas de vida, a infecção por *Clostridium (Clostridioides) difficile* (*C. difficile*) causa grande impacto na produção suinícola, visto que, é considerada uma infecção

negligenciada e subdiagnosticada, que cursa com quadros graves de diarreia em leitões neonatos (OLIVEIRA JUNIOR *et al.*, 2020).

Quando descoberto pela primeira vez, *C. difficile* foi atribuído ao gênero *Clostridium* devido a semelhanças fenotípicas com os membros do gênero. Entretanto, estudos taxonômicos recentes levaram à reclassificação de *Clostridium difficile* em um novo gênero denominado *Clostridioides*, devido ao mapeamento genético do gene 16S rRNA que se mostrou filogeneticamente distante do gênero *Clostridium*. Assim, a nomenclatura proposta recentemente é *Clostridioides difficile* (LAWSON *et al.*, 2016).

A doença é ocasionada por cepas toxigênicas de *C. difficile*. Entretanto, para que a doença ocorra se faz necessário a adesão da bactéria a mucosa intestinal do hospedeiro, passando a produzir exotoxinas que irão desencadear todo o quadro clínico da doença podendo levar os animais a morte (KEESSEN; GAASTRA; LIPMAN, 2011).

Comumente, quando desenvolvem a doença, os animais passam a apresentar sinais clínicos, como por exemplo, diarreia pastosa a aquosa e amarelada grave (KEESSEN; GAASTRA; LIPMAN, 2011).

Assim, o objetivo deste trabalho é fazer uma revisão bibliográfica sistemática sobre a ocorrência de *C. difficile* em leitões, abrangendo os aspectos etiológicos, epidemiológicos, clínicos e patológicos do agente, bem como a forma de diagnóstico, controle e prevenção.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

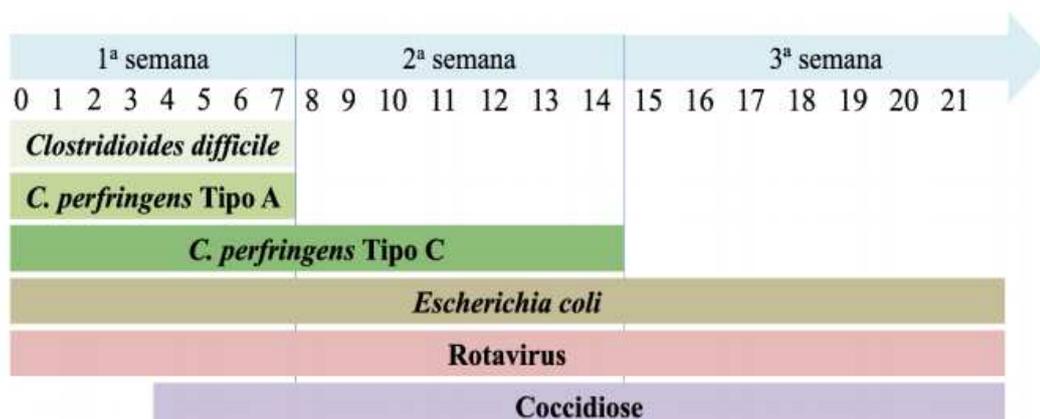
2.1 PRINCIPAIS AGENTES ENVOLVIDOS EM PROBLEMAS ENTÉRICOS NA FASE DE MATERNIDADE

As diarreias na fase de aleitamento são consideradas uma das principais causas de refugagem, perda de peso e mortalidade na fase de maternidade. Existem diversos patógenos que cursam com o quadro clínico entérico, nas diferentes faixas etárias dos leitões (Figura 1), o que dificulta definir o agente mais impactante nesta fase de criação. Além disso, as desordens gastrointestinais neonatais são apontadas como doenças de cunho multifatorial (MORÉS, 2011).

De acordo com Abrahão *et al.* (2004) durante a fase de aleitamento tem-se as maiores perdas por mortalidade. De modo geral, o período mais crítico ocorre até o quarto dia de vida, contabilizando mais da metade da mortalidade durante esta fase. Contudo, desafios presentes na fase pré-desmame também refletem nas fases subsequentes, como a redução no desempenho zootécnico dos animais que conseqüentemente afetam na cadeia produtiva como um todo.

No Brasil, as perdas por desafios entéricos na maternidade estão associadas a quadros infecciosos sendo os patógenos mais prevalentes: *Clostridium (Clostridioides) difficile*, *Escherichia coli enterotoxigênica* (ETEC), *Clostridium perfringens* tipo A e tipo C, Rotavírus A, B ou C e *Cystoisospora suis*, como mostra na Figura 1 (TAKEUTI; CONTI; MAZZAROLLO, 2019; UZUAL; SONGER, 2019).

Figura 1 - Distribuição de possíveis agentes patogênicos causadores de diarreia na maternidade de acordo com a idade do leitão.



Fonte: Adaptado de TAKEUTI; CONTI; MAZZAROLLO (2019).

Dentre os agentes envolvidos em enterites na fase de maternidade, a colite causada por *C. difficile* é responsável por 25% de todas as diarreias nesta fase podendo ser relacionada a utilização profilática de antimicrobianos, prática comum em sistemas de criações no Brasil (SCHWARZ *et al.*, 2005; SONGER; ANDERSON, 2006).

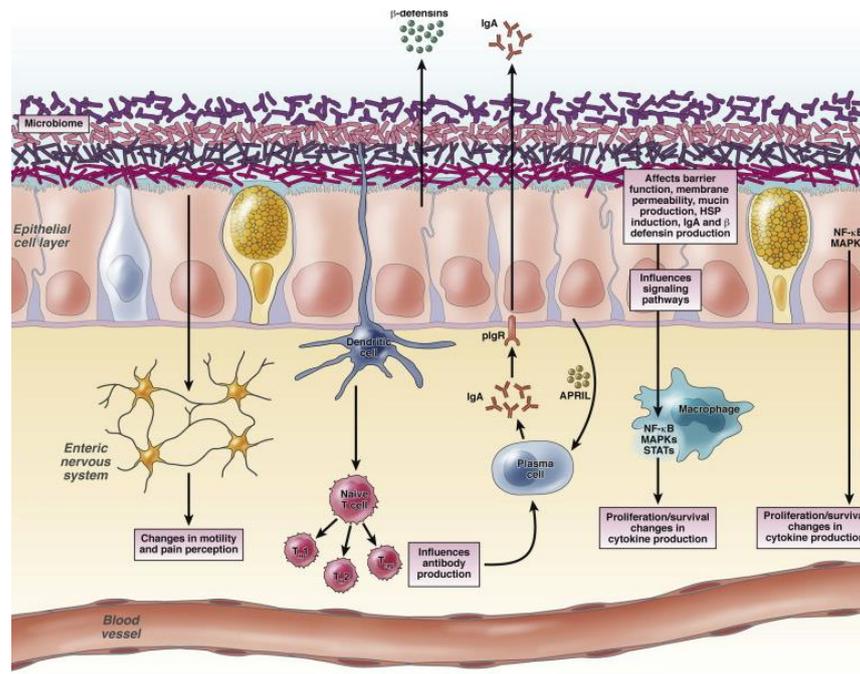
2.2 MICROBIOMA INTESTINAL

O trato digestivo dos mamíferos acomoda uma infinidade de microrganismos, que estabelecem uma relação simbiótica com as células do organismo, comumente mencionado como microbioma (Figura 2). Sabe-se que a microbiota intestinal desempenha importante papel na manutenção da homeostase fisiológica do hospedeiro, na modulação da resposta imune e consequente resistência a infecções (NOOR *et al.*, 2019; QIN *et al.*, 2010).

Segundo trabalhos realizados por Belkaid e Hand (2014) e Marcobal *et al.* (2010) constatou-se que o trato gastrointestinal dos fetos é estéril, tendo a primeira exposição aos microrganismos no momento do nascimento, durante a passagem pelo canal vaginal da progenitora. Deste modo, após o nascimento, ao longo dos primeiros dias de vida, inicia-se um processo de colonização microbiana no intestino do recém-nascido.

Contudo, a colonização intestinal está estreitamente ligada a ingestão do colostro, rico em IgG, IgA, células de defesa e metabólitos que exercem um papel fundamental para moldar a microbiota e as respostas iniciais do hospedeiro frente aos microrganismos já que a passagem de imunoglobulinas via placentária em suínos não ocorre (MARCOBAL; SONNENBURG, 2012; MORÉS, 2011).

Figura 2 – Imagem esquemática do microbioma intestinal.



Fonte: HOLLISTER; GAO; VERSALOVIC (2014).

Estudos recentes, relatam que a microbiota intestinal de suínos apresenta grande diversidade de microrganismos, sendo composta por aproximadamente 800 espécies diferentes de bactérias, sendo identificados os gêneros *Lactobacilli* sp., *Streptococcus* sp., *Fusobacterium* sp., *Clostridium perfringens* e *Escherichia coli* como os primeiros microrganismos a colonizar o trato gastrointestinal de leitões algumas horas após o nascimento (ARRUDA, 2014).

A microbiota do trato gastrointestinal associada ao epitélio do mesmo atua como uma barreira física, permitindo a absorção dos nutrientes e mantendo os patógenos no lúmen do intestino, evitando a colonização e invasão no epitélio e consequentemente reduzindo a ocorrência das diarreias (MORÉS, 2011).

Segundo Noor e colaboradores (2019) infecções ocasionadas por *C. difficile* estão relacionadas ao uso indiscriminado de antibióticos, que acabam resultando no desequilíbrio da microbiota intestinal favorecendo a colonização por patógenos e o desenvolvimento de doenças. Entretanto, de acordo com Waters *et al.* (1998) a doença também pode ocorrer sem que haja a exposição a antimicrobianos, outros fatores predisponentes incluem estresse, dieta e alta contaminação ambiental por esporos de *C. difficile*.

2.3 ANTIMICROBIANOS

Os antimicrobianos são substâncias químicas, obtidas a partir de vários microrganismos (bactérias e fungos) ou através de processos semissintéticos. Possuem a capacidade de restringir o crescimento ou eventualmente matar outros microrganismos (GAVIOLI *et al.*, 2013).

A utilização de antimicrobianos em animais é classificada em três categorias principais, uso terapêutico, prevenção de doenças e como promotor de crescimento. A terapêutica diz respeito ao tratamento de animais doentes, clinicamente diagnosticados. A prevenção de doenças refere-se ao uso de antimicrobianos em animais hígidos considerando o risco de infecção antes do aparecimento clínico. A utilização como promotores de crescimento diz respeito ao uso de antibióticos em concentrações subterapêuticas com intuito de melhorar o aproveitamento do alimento pelos animais resultando em melhor desempenho zootécnico (GAVIOLI *et al.*, 2013; PATEL *et al.*, 2020).

O emprego de antimicrobianos em sistemas de produção tem sido feito desde a década de 1950 com o objetivo de manter os animais saudáveis e aumentar a produtividade. Entretanto, o uso de antimicrobianos para fins não terapêuticos tem provocado preocupações, sendo a principal pauta a resistência microbiana, ocasionado risco a saúde pública e animal (LEKAGUL; TANGCHAROENSATHIEN; YEUNG, 2019).

Infecções associadas ao *C. difficile* em leitões são favorecidas pelo uso errôneo e excessivo de antimicrobianos que contribuem para a ocorrência do quadro clínico da doença, através da disbiose da microbiota intestinal que favorece a colonização do agente (SAMARKOS; MASTROGIANNI; KAMPOUROPOULOU, 2018).

2.4 *Clostridium (Clostridioides) difficile*

O gênero *Clostridioides*, pertencente ao filo *Firmicutes*, classe *Clostridia*, ordem *Clostridiales* e família *Peptostreptococcaceae*, caracterizam-se por serem bactérias anaeróbicas obrigatórias, bastonetes Gram-positivos, capsulados, hemolíticos, móveis com dimensões entre 0,5-1,9 x 3,0 -16,9 μm e estão amplamente distribuídos no solo e no trato intestinal dos animais (LAWSON *et al.*, 2016).

Clostridioides difficile é um agente oportunista, capaz de esporular e produzir toxinas que estão relacionadas a quadros diarreicos em várias espécies animais incluindo cães, gatos, suínos, hamsters, equinos, avestruz, coelhos e humanos (LAWSON *et al.*, 2016).

Devido à dificuldade de promover seu isolamento em laboratório foi originalmente nomeado como *Bacillus difficilis* (KEEL; SONGER, 2006). Quando cultivado em placas de ágar sangue, apresenta crescimento a 37 °C em anaerobiose, comumente 48 horas após a incubação. As colônias apresentam-se planas, brancas, opacas, não hemolíticas e de formato irregular, bem como costumam apresentar fluorescência sob luz ultravioleta (ARRUDA, 2014). Além disso, nos testes bioquímicos a bactéria não é capaz de fermentar a lecitinase, lipase, oxidase e a catalase (LAWSON *et al.*, 2016; YUTIN; GALPERIN, 2013).

Genotipicamente, o agente pode ser dividido em dois grupos, as estirpes toxigênicas e as não toxigênicas. Aquelas toxigênicas possuem uma ilha genômica denominada como locus de patogenicidade (PaLoc), o qual contém os genes das toxinas A (TcdA) e B (TcdB), bem como o locus CdtLoc, uma região codificadora da toxina binária (Cdt) (GERDING *et al.*, 2014). Já as estirpes não produtoras de toxinas de *C. difficile* não possuem estes fragmentos de genoma e assim não podem produzir tais toxinas (NATARAJAN *et al.*, 2013).

A bactéria pode ser encontrada em dois estados, a forma vegetativa que se multiplica no trato gastrointestinal e como um esporo altamente resistente, encontrado nas fezes dos hospedeiros, podendo permanecer viável por até cinco meses no ambiente (WEESE, 2020).

Em condições adversas, com a finalidade de permanecer viável por muito tempo, a forma vegetativa do agente é capaz de formar estruturas especializadas, os esporos que conferem a sobrevivência do microrganismo no ambiente, uma vez que a forma vegetativa não tolera a presença do oxigênio (BRITTON; YOUNG, 2014; TORTORA; FUNKE; CASE, 2010). Entretanto, quando encontra condições favoráveis os esporos germinam transformando-se na forma vegetativa que é capaz de replicar e produzir toxinas que estão relacionadas a patogenia da doença (ZHU; SORG; SUN, 2018).

2.4.1 Fatores de patogênese

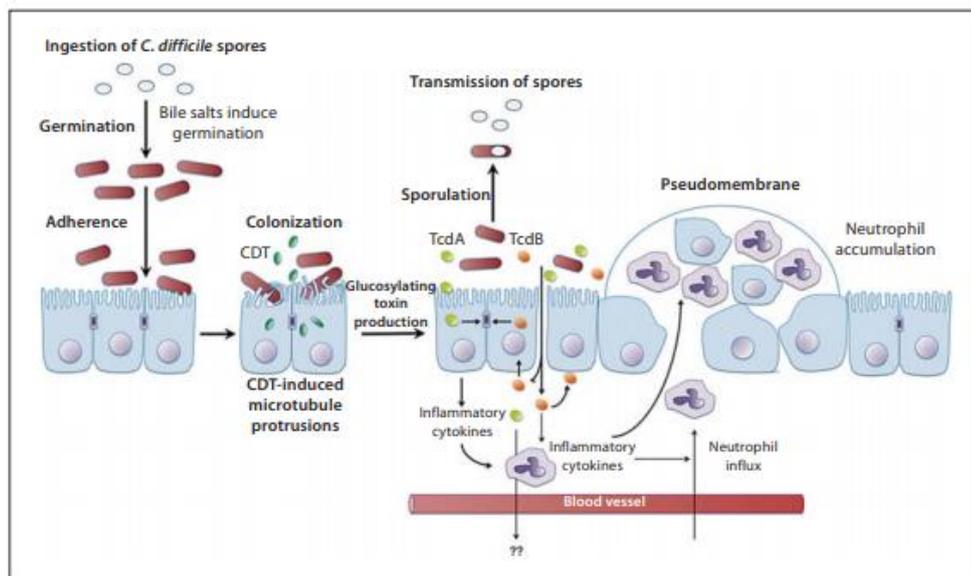
A patogênese da doença está associada aos fatores de virulência do agente: adesinas, capsula e três toxinas: toxina A, B e Cdt (GYLES *et al.*, 2008; YAEGER; FUNK; HOFFMAN, 2002).

As toxinas agem de maneira enterotoxigênica e citotoxigênicas, sendo que a toxina A apresenta atividade enterotóxica e citotóxica, atua comprometendo a permeabilidade e função

dos enterócitos, provocando efusão, aumento da permeabilidade intestinal, e uma intensa reação inflamatória na mucosa, resultando na secreção de íons, eletrólitos e água para o lúmen intestinal, além de promover a ruptura do citoesqueleto da célula alvo, impedindo a síntese proteica, divisão celular levando a morte dos enterócitos. A toxina B age de forma semelhante a toxina A, entretanto com alta atividade citotóxica. Todavia, a toxina Cdt pode agir de forma sinérgica com as demais toxinas, aumentando a despolimerização do citoesqueleto das células do hospedeiro, agravando o quadro clínico (GYLES *et al.*, 2008; SCHWAN *et al.*, 2009; YAEGER; FUNK; HOFFMAN, 2002).

Nas microvilosidades dos enterócitos encontram-se os receptores para a toxina A, já o sítio de ligação da toxina B ainda não é bem esclarecido, acredita-se que se localize na membrana basal das células do epitélio intestinal. Isso explica a ação inicial da toxina A danificando a integridade dos enterócitos, tornando-os vulneráveis a ação da toxina B (Figura 3). Entretanto, não foi completamente esclarecido os receptores para a toxina binária (KEEL; SONGER, 2006).

Figura 3 – Patogênese do *C. difficile*.



Fonte: SHEN (2012).

Contudo, as toxinas produzidas pelo agente podem levar ao comprometimento e/ou destruição do epitélio do cólon, afetando a absorção de água e eletrólitos, resultando em diarreia por má absorção naqueles indivíduos infectados (SMITS *et al.*, 2016). Além disso, as toxinas promovem um intenso processo inflamatório, que acentua-se quando ocorre a perda

da barreira celular e as mesmas atingiram a lamina própria levando a liberação de IL-1, IL-8, histamina, prostaglandinas, leucotrienos e óxido nítrico produzidos por macrófagos, mastócitos e células dendríticas (CHANDRASEKARAN; LACY, 2017). Com a ampliação desses fatores, há um grande extravasamento de fluido vascular para o local de infecção, causando edema e acúmulo de células inflamatórias, que contribuem para a destruição do tecido e a formação de áreas epiteliais necróticas que podem ser visíveis em indivíduos infectados (AKTORIES; SCHWAN; JANK, 2017; VOTH; BALLARD, 2005).

2.5 PATOGENIA

A infecção dos leitões ocorre nas primeiras horas de vida, através da ingestão dos esporos do agente presente nas fezes da porca ou no ambiente, oriundos de animais doentes ou assintomáticos (YAEGER; FUNK; HOFFMAN, 2002). Comumente, a microbiota entérica de um animal hígido impede a colonização do agente. Contudo, tem se observado muitos manejos errôneos exercidos na fase de maternidade, como o fornecimento de antimicrobianos logo após o nascimento o que leva a um desequilíbrio do microbioma intestinal favorecendo a colonização pelo *C. difficile* (ROCHA; SIDRIM; LIMA, 1999). Todavia, a patogenia da infecção por *C. difficile* está estreitamente relacionada aos efeitos celulares das toxinas produzidas pelo patógeno (ARRUDA, 2014).

No duodeno, ocorre a liberação dos ácidos biliares primários (ácido cólico e o ácido quenodesoxicólico) produzidos no fígado, que atuam sobre a gordura da dieta. No intestino, a maior parte dos ácidos biliares são absorvidos, entretanto uma pequena quantidade não é absorvida, e deste modo sofre a ação de enzimas bacterianas do microbioma, as quais transformam os ácidos biliares primários em secundários (litocólico e desoxicólico). Contudo, uso de antimicrobianos favorece um desequilíbrio da microbiota, bem como a uma redução de espécies bacterianas capazes de promover a conversão dos ácidos biliares primários em secundários. Como resultado, tem-se uma redução significativamente de desoxicólico no ceco. Essa redução acaba favorecendo um ambiente propício para *C. difficile*, a germinação e colonização, já que a presença de desoxicólico impede o crescimento vegetativo de *C. difficile*. Assim sendo, os microrganismos presentes na microbiota desempenham um importante papel protetor inibindo o crescimento de *C. difficile* (KOENIGSKNECHT *et al.*, 2015; SORG; SONENSHEIN, 2008).

Após ocorrer a ingestão dos esporos os mesmos percorrem o trato gastrointestinal e sobrevivem ao ambiente ácido do estômago. Posteriormente, ao atingirem o intestino delgado,

com sensibilidade satisfatória do agente, e assim pouco se sabe sobre a ocorrência da infecção em humanos (CANÇADO *et al.*, 2018; PIRES *et al.*, 2014).

Estudos recentes demonstram maior risco de colonização do agente em indivíduos que possuem contato direto com suínos. De modo geral, granjas com estruturação precária e protocolos de biossegurança inadequados, apresentam alto risco de contaminação do agente por parte dos trabalhadores (O'SHAUGHNESSY *et al.*, 2019). Todavia, a transmissão do agente pode ser interrompida através do uso correto de equipamentos de proteção individual (EPI) e higienização das mãos. Entretanto, na maioria das vezes os EPIs não são utilizados pelos trabalhadores de forma correta (WEESE, 2020).

Há mais de duas décadas foi descrita pela primeira vez a infecção causada pelo *C. difficile* em suínos, em consequência da exposição acidental de leitões gnotobióticos que apresentaram colite pseudomembranosa (SONGER, 2006).

A doença ocasionada pelo *C. difficile* tem sido reconhecida como uma das causas mais comuns das infecções hospitalares em pacientes humanos (KEESSEN; GAASTRA; LIPMAN, 2011). Sendo que nos últimos anos também vem sendo diagnosticado em diarreias neonatais em leitões (ALVAREZ-PEREZ *et al.*, 2009).

Em suínos a infecção associada a *C. difficile* (ICD) comumente manifesta-se nos primeiros sete dias de vida, antes que microbiota intestinal se estabeleça e dificulte sua ação inibitória. Além disso, a doença pode se manifestar após o uso prolongado de antimicrobianos (UZUAL; SONGER, 2019).

A infecção causada pelo *C. difficile* tem adquirido importância significativa, pois o agente pode ser responsável por mais de 50% das diarreias neonatais em leitões na primeira semana de vida e pela mortalidade de 10% dos leitões em fase de maternidade (SONGER, 2004).

Segundo Kelly, Pothoulakis e Lamont, (1994) o uso prolongado de antimicrobianos promovem a eliminação da maioria das bactérias comensais do trato entérico, ocasionando uma disbiose intestinal que oportunizam a rápida proliferação e colonização do agente. De acordo com Samarkos, Mastrogianni e Kampouropoulou, (2018) quando ocorre uma alteração da microbiota intestinal, bactérias resistentes a antimicrobianos podem se multiplicar e inibir o crescimento daquelas benéficas, permitindo assim o crescimento de bactérias patogênicas. Na maioria dos casos os animais apresentam a doença na forma subclínica, nos quais se observa redução de 10 a 15% no ganho de peso e diminuição dos índices zootécnicos da granja (SONGER; UZAL, 2005).

2.7 SINAIS CLÍNICOS

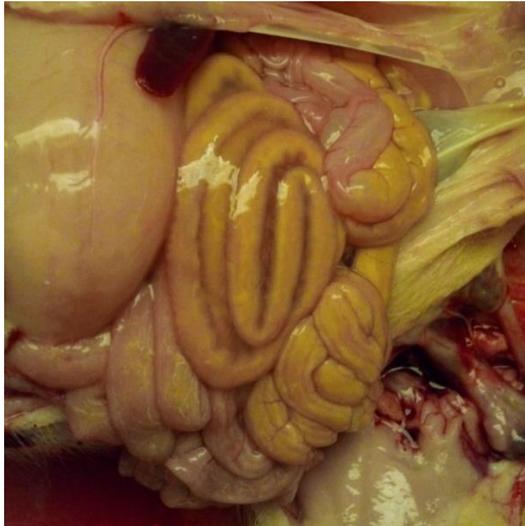
Em suínos, a infecção geralmente manifesta-se durante o período de aleitamento, de 1 a 7 dias de idade. Inicialmente os animais que desenvolvem o quadro clínico da doença apresentam sinais sistêmicos como prostração e anorexia, evoluindo para o aparecimento de fezes amareladas amolecidas a semi-fluidas, desidratação, perda da condição corporal, como também podem ser observados dispneia, abdômen levemente distendido, edema escrotal e morte súbita (KEESSEN; GAASTRA; LIPMAN, 2011; UZUAL; SONGER, 2019).

Entretanto, de acordo com estudos realizados por Alvarez-Perez e colaboradores (2009) comparando a prevalência de *C. difficile* em suínos diarreicos e não diarreicos demonstrou o isolamento do agente naqueles animais que não apresentavam o quadro clínico diarreico, indicando que leitões sem sinais entéricos também podem ser toxinas positivos. Entretanto, é comum encontrar lesões entéricas características da doença no exame histopatológico (WATERS *et al.*, 1998).

2.8 LESÕES MACROSCÓPICAS E MICROSCÓPICAS

Devido ao intenso processo inflamatório desencadeado na mucosa intestinal, principalmente na região de cólon, tem-se um aumento na permeabilidade vascular, intenso recrutamento neutrofílico e extravasamento de líquido dos vasos, ocasionando a colite e edema de mesocólon na porção ascendente (ARRUDA, 2014). Apesar de o edema de mesocólon não ser um achado patognomônico da infecção por *C. difficile* (ICD) é a lesão macroscópica comumente observada nesta doença em leitões (Figura 5) (WATERS *et al.*, 1998).

Figura 5 – Edema de mesocólon em leitão com ICD.

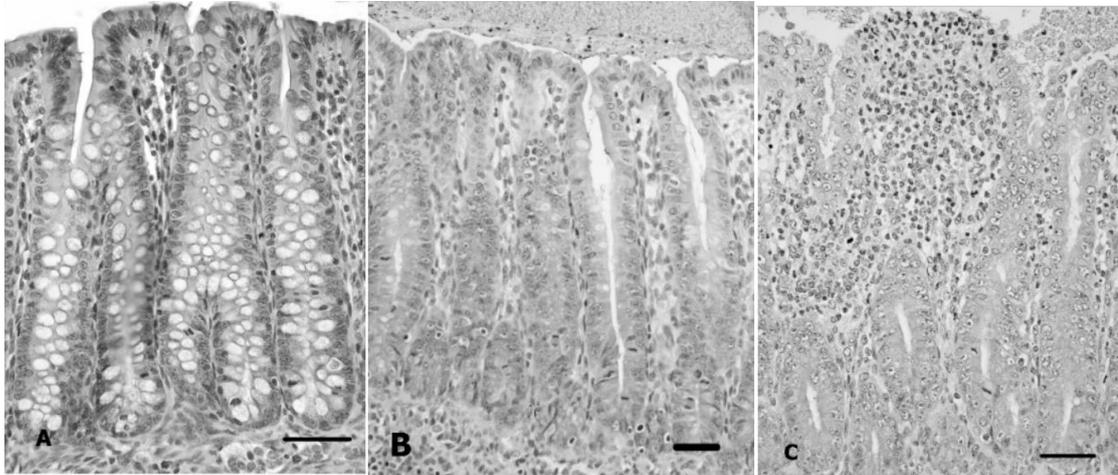


Fonte: Arquivo pessoal (2021).

Macroscopicamente as lesões observadas são inespecíficas. Contudo, durante a necropsia também podem ser observados um ceco flácido, cólon repleto de conteúdo amarelado pastoso a fluido, mucosa intestinal normal ou com erosões, hidrotórax, ascite e edema escrotal (UZUAL; SONGER, 2019).

Microscopicamente as lesões são de modo geral limitadas ao ceco e cólon (UZUAL; SONGER, 2019). Em ICD podem ser observados infiltrados predominantemente neutrófilico na lâmina própria, perda do epitélio, redução de células caliciformes, aumento da atividade mitótica das criptas e múltiplas erosões multifocais na mucosa do cólon. Também, pode-se observar infiltração focal neutrofílica e de macrófagos na lâmina própria e no lúmen assemelhando-se a erupções vulcânicas como são conhecidas as lesões (Figura 6) (YAEGER; KINYON; SONGER, 2007).

Figura 6 - Lesões microscópicas observadas no cólon de leitões positivos para toxina *C. difficile*.



Legenda: A, cólon normal, B, marcado perda de células caliciformes com leve aumento da atividade mitótica da cripta, e C, um infiltrado de neutrófilos na lâmina própria superficial com perda do epitélio subjacente. Fonte: (YAEGER; KINYON; SONGER, 2007).

Contudo, a ausência de lesões macroscópicas e animais sem a sintomatologia clínica é comumente observada em ICD e não excluem a possibilidade do acometimento da doença (ALVAREZ-PEREZ *et al.*, 2009).

2.9 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de ICD tem sido um desafio frequente tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária o que acaba dificultando o tratamento e favorecendo a disseminação do agente (KNIGHT; ESCUDEIRO; RILEY, 2014; MARTÍNEZ-MELÉNDEZ *et al.*, 2017).

O método mais eficiente para diagnóstico definitivo da infecção pelo *C. difficile* se baseia no isolamento do agente e detecção das toxinas. A detecção das toxinas no conteúdo intestinal se dá por meio de teste de ELISA, que é realizado de forma rápida, entretanto os testes disponíveis no mercado foram desenvolvidos e avaliados para uso a partir de amostras fecais de humanos e quando utilizadas em amostras suínas apresentam uma sensibilidade e especificidade muito mais baixa se comparadas as amostras de humanos o que torna o valor diagnóstico questionável (ARRUDA, 2014; BÉLANGER *et al.*, 2003).

Na rotina diagnóstica, o método mais rápido e eficiente é baseado na detecção do agente através da reação em cadeia polimerase (PCR), com altos índices de sensibilidade e

especificidade, sendo utilizados tanto para diagnóstico em humanos quanto em animais (LOBATO *et al.*, 2013). A PCR possibilita a detecção de sequências específicas dos genes codificadores das toxinas do agente (BÉLANGER *et al.*, 2003) permitindo determinar se os isolados em questão são toxigênicos ou não, visto que as estirpes não toxigênicas não possuem potencial patogênico (NATARAJAN *et al.*, 2013). A análise histopatológica também tem papel fundamental no diagnóstico complementar, pois a presença de lesões características permite maiores evidências ao diagnóstico diferencial (BELANGER *et al.*, 2003).

No que tange o diagnóstico clínico, é importante salientar que, a ausência de conteúdo diarreico e lesões macroscópicas típicas não descartam a possibilidade de infecção, já que a doença se apresenta de forma subclínica na maioria das vezes em suínos (LOBATO *et al.*, 2013). Dessa forma, o diagnóstico baseado na cultura e isolamento do agente, técnicas moleculares e imunoenaios tem sua aplicação limitada, sendo de suma importância a realização do exame histopatológico para confirmação da doença (BELANGER *et al.*, 2003). Assim sendo, para realizar o diagnóstico da ICD deve-se associar o histórico clínico, grupo etário dos animais afetados, observação das lesões macroscópicas e microscópicas bem como o diagnóstico laboratorial baseado na cultura e detecção das toxinas do agente em amostras fecais (DELMÉE, 2001).

2.8 PREVENÇÃO E CONTROLE

A prevenção e o controle das diarreias causadas pela maioria dos clostrídios na fase de aleitamento baseiam-se em principalmente em medidas de manejo, limpeza e desinfecção, associado ao uso da vacinação nas porcas no pré-parto para a transferência de imunidade passiva aos leitões via colostro, entretanto para *C. difficile* não existem vacinas disponíveis no mercado brasileiro até o momento. *C. difficile* apresenta alta capacidade em produzir esporos e permanecer viável no ambiente, o que pode tornar o controle do agente um desafio constante. Porém, desinfetantes a base de cloro em altas concentrações é eficaz quando utilizado durante o vazio sanitário (KEESSEN, E. C.; GAASTRA, W.; LIPMAN, 2011; LOBATO *et al.*, 2013).

Desta forma, a prevenção da ICD baseia-se em evitar ou minimizar a exposição do hospedeiro ao agente, bem como evitar com que ocorram alterações na microbiota intestinal e favoreça a colonização e multiplicação do patógeno, pois até o momento não há produtos comerciais disponíveis para tratar a ICD em leitões (ARRUDA, 2014).

Estudos recentes, tem demonstrados bons resultados quanto a administração de colostro hiperimune bovino (CHB) por via oral em leitões. Os leitões gnotobióticos que receberam o CHB apresentaram apenas sinais brandos da ICD, como diarreia leve e não foram observadas lesões graves da ICD durante a necropsia. Entretanto, aos animais que não receberam o CHB apresentaram lesões mais acentuadas da doença, demonstrando bons resultados na prevenção do quadro clínico e das lesões macroscópicas e histopatológicas (SPONSELLER *et al.*, 2015). Outro estudo, realizado em suínos gnotobióticos, testou-se a utilização de anticorpos monoclonais e policlonais contra a toxinas B do agente. Todos os animais que receberam os anticorpos policlonais ou monoclonais, de forma intraperitoneal não desenvolveram qualquer sinal clínico sistêmico da doença, reduziu a severidade dos sintomas gastrointestinais, impedindo a morte dos leitões (STEELE *et al.*, 2013).

A partir dos últimos estudos na prevenção da ICD, tem-se destacado a administração de estirpes não toxigênicas de *C. difficile* (NTCD) como um dos métodos mais favoráveis para a prevenção da doença (GERDING; SAMBOL; JOHNSON 2018; KOCIOLEK; GERDING, 2016), visto que, as estirpes NTCD não possuem os genes capazes de produzirem toxinas, mas mantem a mesma capacidade de colonização devido a competição pelo sítio de ligação com as estirpes toxigênicas (SONGER *et al.*, 2007). Em estudos utilizando este método, tem-se relatado redução de lesões macro e microscópicas sem nenhum efeito colateral evidente em animais que receberam a NTCD (ARRUDA *et al.*, 2016).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ocorrência de desafios entéricos na suinocultura na fase de maternidade, em especial na primeira semana de vida, tem grande importância, visto que é neste período que ocorrem as maiores perdas.

A colite por *C. difficile* é atualmente um importante desafio sanitário na suinocultura industrial, sendo uma das principais causas de diarreia em leitões neonatos. A ocorrência de diarreias em leitões na maternidade causa grande impacto na produção suinícola devido a perdas ocasionadas com mortalidade, gastos com tratamentos, redução de ganho de peso e redução da performance dos animais nas fases subsequentes.

O desenvolvimento da colite por *C. difficile* está associado a fatores que promovem o desequilíbrio da microbiota intestinal favorecendo a germinação, colonização de agentes patogênicos e o desenvolvimento de doenças. Atualmente, sabe-se que ainda existem muitos manejos errôneos sendo exercidos na cadeia suinícola, como o uso excessivo e indiscriminado de antimicrobianos para fins não terapêuticos que favorecem o desenvolvimento da colite por *C. difficile*. Dessa forma, o uso de boas práticas de manejo associadas a um rigoroso programa de limpeza, desinfecção e vazios sanitários são fundamentais na prevenção das diarreias nos leitões na maternidade, visto que não existem produtos comerciais disponíveis até o momento para o tratamento de ICD em leitões.

Para a correta prevenção, torna-se necessário um diagnóstico preciso através do histórico clínico, observação dos sintomas apresentados, idade dos animais acometidos, lesões macroscópicas e microscópicas associadas ao exame histopatológico e laboratorial baseado na cultura e detecção das toxinas do agente em amostras fecais, visto que na maioria dos casos os animais apresentam a doença na forma subclínica.

REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2021**. 2021.
- ABRAHÃO, Abrão Antônio Ferreira et al. Causas de mortalidade de leitões neonatos em sistema intensivo de produção de suínos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 2, p. 86-91, 2004.
- AKTORIES, Klaus; SCHWAN, Carsten; JANK, Thomas. Clostridium difficile toxin biology. **Annual review of microbiology**, v. 71, p. 281-307, 2017.
- ALVAREZ-PEREZ, Sergio et al. Prevalence of Clostridium difficile in diarrhoeic and non-diarrhoeic piglets. **Veterinary microbiology**, v. 137, n. 3-4, p. 302-305, 2009.
- ARAÚJO, F. M. L.; BROGGIO, B. Doenças entéricas na suinocultura – maternidade. **Nutritime Revista Eletrônica**, on-line, Viçosa, v.18, n.2, p.8918-8929, 2021.
- ARRUDA, Paulo HE et al. Bacterial probiotics as an aid in the control of Clostridium difficile disease in neonatal pigs. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 57, n. 2, p. 183, 2016.
- ARRUDA, Paulo HE. **Clostridium difficile infection in neonatal piglets: Pathogenesis, risk factors, and prevention**. 2014. Tese de Doutorado. Iowa State University.
- BÉLANGER, Simon D. et al. Rapid detection of Clostridium difficile in feces by real-time PCR. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 2, p. 730-734, 2003.
- BELKAID, Yasmine; HAND, Timothy W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. **Cell**, v. 157, n. 1, p. 121-141, 2014.
- BRITTON, Robert A.; YOUNG, Vincent B. Role of the intestinal microbiota in resistance to colonization by Clostridium difficile. **Gastroenterology**, v. 146, n. 6, p. 1547-1553, 2014.
- CANÇADO, Guilherme Grossi Lopes et al. Clinical epidemiology of Clostridium difficile infection among hospitalized patients with antibiotic-associated diarrhea in a university hospital of Brazil. **Anaerobe**, v. 54, p. 65-71, 2018.
- CHANDRASEKARAN, Ramyavardhanee; LACY, D. Borden. The role of toxins in Clostridium difficile infection. **FEMS microbiology reviews**, v. 41, n. 6, p. 723-750, 2017.
- DELMÉE, Michel. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile disease. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 7, n. 8, p. 411-416, 2001.
- DE OLIVEIRA JUNIOR, Carlos Augusto. **Avaliação de uma estirpe não toxigênica para prevenção de diarreia neonatal em leitões por clostridioides (clostridium) difficile**. 2019.
- GAVIOLI, David Fernandes et al. Efeito de promotores de crescimento para suínos sobre o desempenho zootécnico, a qualidade intestinal e a eficiência da biodigestão dos dejetos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 3983-3997, 2013.

GERDING, Dale N. et al. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. **Gut microbes**, v. 5, n. 1, p. 15-27, 2014.

GERDING, Dale N.; SAMBOL, Susan P.; JOHNSON, Stuart. Non-toxigenic Clostridioides (formerly Clostridium) difficile for prevention of C. difficile infection: from bench to bedside back to bench and back to bedside. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1700, 2018.

GODOY, Luana Regi de. **Causas de mortalidade em leitões na maternidade nos três primeiros dias de vida**. 2017.

GYLES, Carlton L. et al. (Ed.). **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. John Wiley & Sons, 2008.

HAMMITT, Melissa C. et al. A possible role for Clostridium difficile in the etiology of calf enteritis. **Veterinary microbiology**, v. 127, n. 3-4, p. 343-352, 2008.

HOLLISTER, Emily B.; GAO, Chunxu; VERSALOVIC, James. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. **Gastroenterology**, v. 146, n. 6, p. 1449-1458, 2014.

JANOIR, Claire et al. Cwp84, a surface-associated protein of Clostridium difficile, is a cysteine protease with degrading activity on extracellular matrix proteins. **Journal of bacteriology**, v. 189, n. 20, p. 7174-7180, 2007.

KEEL, Michael K.; SONGER, J. G. The comparative pathology of Clostridium difficile-associated disease. **Veterinary pathology**, v. 43, n. 3, p. 225-240, 2006.

KEESSEN, E. C. et al. Evaluation of four different diagnostic tests to detect Clostridium difficile in piglets. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 5, p. 1816-1821, 2011.

KEESSEN, E. C.; GAASTRA, W.; LIPMAN, L. J. A. Clostridium difficile infection in humans and animals, differences and similarities. **Veterinary microbiology**, v. 153, n. 3-4, p. 205-217, 2011.

KELLY, Ciaran P.; POTHOUKAKIS, Charalabos; LAMONT, J. Thomas. Clostridium difficile coitis. **New England Journal of Medicine**, v. 330, n. 4, p. 257-262, 1994.

KNIGHT, Daniel R.; ESCUDEIRO, Michele M.; RILEY, Thomas V. Detecção laboratorial de Clostridium difficile em leitões na Austrália. **Journal of clinical microbiology**, v. 52, n. 11, p. 3856-3862, 2014.

KOCIOLEK, Larry K.; GERDING, Dale N. Breakthroughs in the treatment and prevention of Clostridium difficile infection. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 13, n. 3, p. 150-160, 2016.

KOENIGSKNECHT, Mark J. et al. Dynamics and establishment of Clostridium difficile infection in the murine gastrointestinal tract. **Infection and immunity**, v. 83, n. 3, p. 934-941, 2015.

- LAWSON, Paul A. et al. Reclassification of clostridium difficile as clostridioides difficile (Hall and O'Toole 1935) Prévot 1938. **Anaerobe**, v. 40, p. 95-99, 2016.
- LEKAGUL, Angkana; TANGCHAROENSATHIEN, Viroj; YEUNG, Shunmay. Patterns of antibiotic use in global pig production: a systematic review. **Veterinary and animal science**, v. 7, p. 100058, 2019.
- LESSA, Fernanda C. et al. Burden of Clostridium difficile infection in the United States. **New England Journal of Medicine**, v. 372, n. 9, p. 825-834, 2015.
- LOBATO, Francisco Carlos Faria et al. Clostridioses dos animais de produção. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, p. 29-48, 2013.
- MARCOBAL, A.; SONNENBURG, J. L. Human milk oligosaccharide consumption by intestinal microbiota. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, p. 12-15, 2012.
- MARCOBAL, Angela et al. Consumption of human milk oligosaccharides by gut-related microbes. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 9, p. 5334-5340, 2010.
- MARTÍNEZ-MELÉNDEZ, Adrián et al. Current knowledge on the laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. **World journal of gastroenterology**, v. 23, n. 9, p. 1552, 2017.
- MENIN, Álvaro et al. Diagnóstico das principais doenças dos suínos. Diagnóstico clínico-patológico e laboratorial das principais enfermidades dos animais domésticos. Goiânia/Goiás: **Editora Espaço Acadêmico**, 2019. cap. 7, p. 273-466.
- MENIN, A.; RECK, C.; SOUZA, D.; KLEIN, C.; VAZ, E. Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, p.1687-1693, set, 2008.
- MORÉS, Nelson. Fatores de risco e medidas inespecíficas no controle das diarreias na maternidade. In: **Embrapa Suínos e Aves-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE AVES E SUÍNOS-AVESUI, 10., 2011, Florianópolis. Anais... Florianópolis: Gessulli, 2011., 2011.
- NATARAJAN, Mukil et al. A clinical and epidemiological review of non-toxigenic Clostridium difficile. **Anaerobe**, v. 22, p. 1-5, 2013.
- NOOR, Fozia et al. The gut microbiota and hematopoietic stem cell transplantation: challenges and potentials. **Journal of innate immunity**, v. 11, n. 5, p. 405-415, 2019.
- O'SHAUGHNESSY, Rory A. et al. Clostridioides difficile on Ohio swine farms (2015): A comparison of swine and human environments and assessment of on-farm risk factors. **Zoonoses and public health**, v. 66, n. 7, p. 861-870, 2019.

OLIVEIRA JUNIOR, C.A.; GUEDES, R. M. C.; SILVA, R. O. S.; LOBATO, F. C. F. Prevenção da diarreia neonatal por *Clostridium difficile* por exclusão competitiva. **Sanidade e Produção Suína: Atualização, Inovação e Tecnologia**, p. 121, 2020.

PATEL, Sameer J. et al. Antibiotic stewardship in food-producing animals: Challenges, progress, and opportunities. **Clinical therapeutics**, 2020.

PEREIRA, N. G. Infecção pelo *Clostridium difficile*. **JBM**, v. 102, n. 5, p. 27-49, 2014.

PIRES, Renata N. et al. *Clostridium difficile* infection in Brazil: a neglected problem?. **American journal of infection control**, v. 42, n. 4, p. 459-460, 2014.

QIN, Junjie et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. **nature**, v. 464, n. 7285, p. 59-65, 2010.

ROCHA, Marcos Fábio G.; SIDRIM, José Júlio C.; LIMA, Aldo Ângelo M. O *Clostridium difficile* como agente indutor de diarreia inflamatória. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 47-52, 1999.

SAMARKOS, Michael; MASTROGIANNI, Elpida; KAMPOUROPOULOU, Olga. The role of gut microbiota in *Clostridium difficile* infection. **European journal of internal medicine**, v. 50, p. 28-32, 2018.

SCHWAN, Carsten et al. *Clostridium difficile* toxin CDT induces formation of microtubule-based protrusions and increases adherence of bacteria. **PLoS pathogens**, v. 5, n. 10, p. e1000626, 2009.

SCHWARZ, Eveline et al. Intraepithelial but not lamina propria lymphocytes in the porcine gut are affected by dexamethasone treatment. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 105, n. 1-2, p. 125-139, 2005.

SHEN, Aimee. *Clostridium difficile* toxins: mediators of inflammation. **Journal of innate immunity**, v. 4, n. 2, p. 149-158, 2012.

SMITS, Wiep Klaas et al. *Clostridium difficile* infection. **Nature reviews Disease primers**, v. 2, n. 1, p. 1-20, 2016.

SONGER, J. Glenn et al. Prevention of porcine *Clostridium difficile*-associated disease by competitive exclusion with nontoxic organisms. **Veterinary microbiology**, v. 124, n. 3-4, p. 358-361, 2007.

SONGER, J. Glenn. The emergence of *Clostridium difficile* as a pathogen of food animals. **Animal Health Research Reviews**, v. 5, n. 2, p. 321-326, 2004.

SONGER, J. Glenn; ANDERSON, Michael A. *Clostridium difficile*: an important pathogen of food animals. **Anaerobe**, v. 12, n. 1, p. 1-4, 2006.

SONGER, J. Glenn; UZAL, Francisco A. Clostridial enteric infections in pigs. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 17, n. 6, p. 528-536, 2005.

SORG, Joseph A.; SONENSHEIN, sais de Abraham L. Bile salts and glycine as co-germinants for difficile clostridium spores. **Journal of bacteriology**, v. 190, n. 7, p. 2505-2512, 2008.

SPONSELLER, Jerlyn K. et al. Hyperimmune bovine colostrum as a novel therapy to combat Clostridium difficile infection. **The Journal of infectious diseases**, v. 211, n. 8, p. 1334-1341, 2015.

STEELE, Jennifer et al. Antibody against TcdB, but not TcdA, prevents development of gastrointestinal and systemic Clostridium difficile disease. **The Journal of infectious diseases**, v. 207, n. 2, p. 323-330, 2013.

TAKEUTI, K. L.; CONTI, E R.; MAZZAROLLO, A.; BARCELLOS, D. E. Fatores predisponentes para a ocorrência de diarreias na maternidade. 2019.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, CL. **Microbiologia**. 10. ed., Porto Alegre: Artmed, 2010.

UZUAL, F. A. SONGER, J. G. Bacterial Diseases. **Diseases of Swine**. Nova Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2019. cap. 4, p. 743-1002.

VOTH, Daniel E.; BALLARD, Jimmy D. Clostridium difficile toxins: mechanism of action and role in disease. **Clinical microbiology reviews**, v. 18, n. 2, p. 247-263, 2005.

WATERS, Edwin H. et al. Typhlocolitis caused by Clostridium difficile in suckling piglets. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 10, n. 1, p. 104-108, 1998.

WEESE, J. Scott. Clostridium (Clostridioides) difficile in animals. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 32, n. 2, p. 213-221, 2020.

YAEGER, Michael J.; KINYON, Joann M.; SONGER, J. Glenn. A prospective, case control study evaluating the association between Clostridium difficile toxins in the colon of neonatal swine and gross and microscopic lesions. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 19, n. 1, p. 52-59, 2007.

YAEGER, Michael; FUNK, Nathan; HOFFMAN, Lorraine. A survey of agents associated with neonatal diarrhea in Iowa swine including Clostridium difficile and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 14, n. 4, p. 281-287, 2002.

YUTIN, Natalya; GALPERIN, Michael Y. A genomic update on clostridial phylogeny: Gram-negative spore formers and other misplaced clostridia. **Environmental microbiology**, v. 15, n. 10, p. 2631-2641, 2013.

ZANELLA, Janice Reis Ciacci; MORÉS, Nelson; BARCELLOS, David Emilio Santos Neves de. Principais ameaças sanitárias endêmicas da cadeia produtiva de suínos no Brasil. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 51, p. 443-453, 2016.

ZHU, Duolong; SORG, Joseph A.; SUN, Xingmin. Clostridioides difficile biology: sporulation, germination, and corresponding therapies for C. difficile infection. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 8, p. 29, 2018.